HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ハイドロゲルを用いた星状膠細胞と膠芽腫幹細胞の相互作用の検討
Author(s)	白井, 裕介
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16898号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16898
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99743
Type	doctoral thesis
File Information	SHIRAI_Yusuke_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　白井　裕介

	主査	教授	木下　一郎
審査担当者	副査	教授	青山　英史
	副査	准教授	横田　勲

学 位 論 文 題 名

ハイドロゲルを用いた星状膠細胞と膠芽腫幹細胞の相互作用の検討

（Studies on the interactions between astrocytes and glioblastoma stem cells using hydrogel）

申請者は癌幹細胞を創成することが示されているハイドロゲルによる培養系を用いて、膠芽腫細胞と星状膠細胞の腫瘍微小環境における相互作用について検討した。膠芽腫細胞である KMG4 細胞と不死化した星状膠細胞である NHA-TS 細胞を用いて、ハイドロゲル上での共培養により幹細胞性が誘導されることを示し、タイムラプス顕微鏡により細胞外小胞による相互作用が生じていること示した。星状膠細胞由来の細胞外小胞の投与下で、膠芽腫細胞の幹細胞マーカーの発現が増加することを示し、細胞外小胞による相互作用を介して星状膠細胞が膠芽腫幹細胞の幹細胞性の獲得に寄与することを示した。PNaSS ゲル上培養での網羅的な遺伝子発現解析により、星状膠細胞由来細胞外小胞の添加によって、膠芽腫細胞はCOL1A1を含む細胞外マトリクス形成に関連する遺伝子の発現が亢進すること、星状膠細胞由来細胞外小胞の添加によって、星状膠細胞は血管新生を制御する THBS1 の発現が亢進することを見出した。さらに、空間トランスクリプトームの解析における COL1A1, THBS1 の空間解析から、星状膠細胞と膠芽腫の相互作用が、微小血管増殖や血管周囲の膠芽腫幹細胞微小環境の形成へ寄与している可能性を示した。

審査にあたり、まず副査の横田准教授から、実験にあたり使用した膠芽腫細胞株や星状膠細胞株において、KMG4 細胞や NHA-TS 細胞のみをなぜ用いたのか質問があった。申請者は膠芽腫においては症例ごとの腫瘍形質の不均一性があり、星状膠細胞においてもヒト脳組織において星状膠細胞の機能が脳の分布において異なっている可能性があることから、複数細胞株や初代培養細胞で同様の実験を行う必要があると回答した。次に、空間トランスクリプトーム解析の結果においても、解析した 1 症例の結果がどの膠芽腫の症例においても当てはまるのか質問があり、膠芽腫は細胞ごとの遺伝子発現により neural progenitor-like, oligodendrocytic progenitor-like, astrocyte-like, mesenchymal-like の細胞状態に分けられるなど多様性に富んでおり、他症例においての再現性を検証する必要があると回答した。

続いて、副査の青山教授からは、複数のハイドロゲルを用いた中で PNaSS ゲルに着目した理由について質問があった。申請者は、KMG4 細胞において高発現を示す SOX2 が PNaSS ゲル上でさらに亢進し、幹細胞性が最も誘導されたこと、細胞がゲル表面に接着するため

タイムラプス撮像により細胞外小胞を介した相互作用を観察できたことを挙げた。さらに、各ゲルにおいて幹細胞マーカーの発現増加の違いが認められる理由について質問があり、申請者は、各ゲルの表面電荷や硬さ、蛋白質吸着能の差異により異なる幹細胞微小環境が形成されている可能性を説明した。また、膠芽腫において術後の化学放射線療法により癌幹細胞が誘導される可能性について質問があり、膠芽腫においても癌幹細胞が誘導されうると回答した。さらに、VEGF 阻害薬が微小血管増殖に与える影響について質問があり、申請者は、本研究では検討できておらず、今後の研究課題であると回答した。

最後に、主査の木下教授より、ハイドロゲルによって検討した各幹細胞マーカー遺伝子発現の違いは細胞の形質にどのように影響するのか質問があった。申請者は、幹細胞マーカーによる幹細胞の機能の違いについては、今後解析する必要があると回答した。また、空間トランスクリプトーム解析において、幹細胞マーカー発現の分布と微小血管増殖との関連はみられるかと質問があり、申請者は、空間トランスクリプトーム解析においても幹細胞マーカーの分布は解析可能であり、今後検討したいと回答した。また、星状膠細胞と膠芽腫幹細胞の相互作用を通して見出した分子の治療標的開発の可能性について質問があり、申請者は、分化誘導の機序を検討することで、膠芽腫幹細胞の血管周囲微小環境を制御し、治療開発につながる可能性があると回答した。

この論文は、ハイドロゲル培養系を基盤として、膠芽腫幹細胞と星状膠細胞の相互作用を細胞外小胞、遺伝子発現解析および空間トランスクリプトーム解析を統合して明らかにした点において高く評価される。とくに、血管周囲微小環境における細胞状態の可塑性と微小血管増殖形成との関連を基礎的に示しており、今後の膠芽腫微小環境研究の進展や、治療抵抗性や再発機構の解明につながる発展が期待される。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども合わせ、申請者が博士(医学)の学位を授与されるのに十分な資格を有すると判定した。